

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/019360

International filing date: 24 December 2004 (24.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP  
Number: 2004-345099  
Filing date: 30 November 2004 (30.11.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 03 March 2005 (03.03.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

11.01.2005

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日                      2 0 0 4 年 1 1 月 3 0 日  
Date of Application:

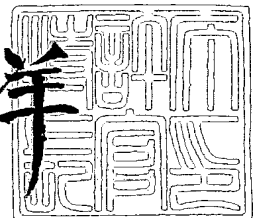
出 願 番 号                      特 願 2 0 0 4 - 3 4 5 0 9 9  
Application Number:  
[ST. 10/C]:                      [ J P 2 0 0 4 - 3 4 5 0 9 9 ]

出      願      人                      不 二 製 油 株 式 会 社  
Applicant(s):

2 0 0 5 年    2 月 1 7 日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川 洋



【書類名】 特許願  
【整理番号】 PY15040MM  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 A61K 31/00  
【発明者】  
    【住所又は居所】 茨城県筑波郡谷和原村絹の台 4 丁目 3 番地 不二製油株式会社  
    つくば研究開発センター内  
    【氏名】 有島 俊治  
【発明者】  
    【住所又は居所】 大阪府泉佐野市住吉町 1 番地 不二製油株式会社 阪南事業所内  
    【氏名】 橘 伸彦  
【特許出願人】  
    【識別番号】 000236768  
    【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区西心斎橋 2 丁目 1 番 5 号  
    【氏名又は名称】 不二製油株式会社  
    【代表者】 浅原 和人  
    【電話番号】 0724-63-1564  
【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 029377  
    【納付金額】 16,000円  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 特許請求の範囲 1  
    【物件名】 明細書 1  
    【物件名】 要約書 1

**【書類名】 特許請求の範囲****【請求項 1】**

L U U 型及び U U L 型 トリアシルグリセロール（L は炭素数 1 6 ～ 2 2 の長鎖飽和脂肪酸、U は炭素数 1 6 ～ 2 2 の不飽和脂肪酸より構成される非対称型 トリアシルグリセロール）を有効成分とする リパーゼ阻害剤。

**【請求項 2】**

請求項 1 記載の非対称型 トリアシルグリセロールを有効成分とする 脂質吸収阻害剤。

**【請求項 3】**

請求項 1 記載の非対称型 トリアシルグリセロールを有効成分とする 抗肥満剤。

**【請求項 4】**

請求項 1 記載の非対称型 トリアシルグリセロールを有効成分とする 高脂血症改善剤。

**【請求項 5】**

請求項 1 乃至請求項 4 何れか 1 項記載の剤を含有する食品。

**【請求項 6】**

請求項 1 乃至請求項 4 何れか 1 項記載の剤を含有する医薬。

【書類名】明細書

【発明の名称】リパーゼ阻害剤

【技術分野】

【0001】

本発明は、リパーゼ阻害剤及びそれを含有する食品に関する。さらに詳しくは、生体内での脂質の消化吸收をにない、肥満症、高脂血症の鍵となる膵臓リパーゼを有効に阻害してこれらの疾病の抑制や予防に寄与し得る安全性の高い油溶性のリパーゼ阻害剤に関する。

【背景技術】

【0002】

近年、食事からの脂肪摂取の過剰による肥満と糖尿病・高脂血症・循環器疾患といった生活習慣病の関係が取り上げられ、問題とされている。これを改善する方法として、1. 食品中の油脂含量の低下、2. 油脂そのものの低カロリー化、3. 油脂代替物での置換、4. 代謝の促進、5. リパーゼ阻害剤などが提案されている。5. のリパーゼ阻害剤については、脂肪の膵臓リパーゼによる分解を阻害して肥満を抑制、予防する薬剤の開発が試みられている。

例えば、特許文献1では、紅景天、イワベンケイ、サボンソウ、ボルド、パスチャカ、トルメンチラ、エルカンプリ、ウコンイソマツ、チュチュウアシ、キャツクロー、シナモン、山椒、センダングサ、ウコギ、ストロベリー、モージェ、バラ、柿、セイヨウオトギリソウ、杜仲及び白茶からなる植物の群より選ばれる少なくとも1種を含有するリパーゼ阻害剤が提案されている。

【0003】

また、特許文献2では、ユッカ、高麗人参、ジャスミン茶、山査子、黄杞茶、ルイボス茶、大豆胚芽、生姜、および杜仲茶よりなる群から選択される少なくとも1種以上の素材からの抽出エキスを有効成分とするリパーゼ阻害剤が提案されている。

しかしながら、抽出物が殆ど水溶性のものであり油脂に混ぜることが出来なかったり、喫食時に服用させるしか方法がなく煩雑であったり、また抽出物の効果が不充分であったりしてその殆どが市場に出ていない。

一方、油脂に溶解できる油溶性の物質としては、特許文献3において、テトラヒドロリプスタチンを胃腸リパーゼ阻害剤として使用することが提案されている。この阻害剤はリパーゼそのものと直接共有結合して失活させるといわれており、その効果はかなり強力の一部には下痢症状も観られ、食品としては安全性の面での懸念が残り、よりマイルドに効果を発揮するような油溶性のリパーゼ阻害剤が望まれている。

【0004】

【特許文献1】特開2002-179586号公報

【特許文献2】特開2002-275077号公報

【特許文献3】米国特許第4598089号明細書

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明の目的は、脂肪の過剰摂取による肥満や肥満が原因で発生する疾病の予防や治療に寄与し得て、且つあらゆる油脂に添加し得る油溶性のリパーゼ阻害剤を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明者らは、上記の問題を解決するため鋭意研究をおこなった結果、グリセロールの1位が長鎖飽和脂肪酸、2位と3位が長鎖不飽和脂肪酸より構成される非対称型トリアシルグリセロール及びグリセロールの3位が長鎖飽和脂肪酸、1位と2位が長鎖不飽和脂肪酸より構成される非対称型トリアシルグリセロールが膵臓リパーゼの活性を阻害することを発見し、この非対称型トリアシルグリセロールをベース油脂中に少量含むことにより油

脂全体の分解速度が緩和されることを見出したのである。

即ち本発明の第1は、L U U型及びU U L型トリアシルグリセロール（Lは炭素数18～22の長鎖飽和脂肪酸、Uは炭素数16～22の不飽和脂肪酸より構成される非対称型トリアシルグリセロール）を有効成分とするリパーゼ阻害剤である。第2は、第1記載の非対称型トリアシルグリセロールを有効成分とする脂質吸収阻害剤である。第3は、第1記載の非対称型トリアシルグリセロールを有効成分とする抗肥満剤である。第4は、第1記載の非対称型トリアシルグリセロールを有効成分とする高脂血症改善剤である。第5は、第1乃至第4何れか1に記載の剤を含有する食品である。第6は、第1乃至第4何れか1に記載の剤を含有する医薬である。

#### 【発明の効果】

##### 【0007】

本発明のL U U型及びU U L型トリアシルグリセロールはリパーゼ活性を強力に阻害し、かつ油溶性でありあらゆる油脂に添加でき、脂肪の過剰摂取による肥満や肥満が原因で発生する疾病の予防や治療に有効である。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

##### 【0008】

本発明における、リパーゼによる加水分解を遅延させる油溶性物質L U U型及びU U L型トリアシルグリセロールは、そのグリセロールの1位、又は3位に結合する脂肪酸が飽和脂肪酸で炭素数16のパルミチン酸から炭素数22のべヘン酸までのものであってより長鎖脂肪酸が好ましく、2位と3位（L U U型の場合）又は1位と2位（U U L型の場合）に結合する脂肪酸が炭素数16のパルミトオレイン酸から炭素数22のエルシン酸までの脂肪酸で構成されるもので、長鎖不飽和脂肪酸はモノ不飽和脂肪酸からポリ不飽和脂肪酸までのいずれでも良いが、実際に使用する場合の酸化安定性の観点からはモノ不飽和が好ましい。このようなL U U型、又はU U L型トリアシルグリセロールの一部例をあげるとS O O（1位がステアリン酸、2,3位がオレイン酸）、O O S（3位がステアリン酸、1,2位がオレイン酸）、S L i L i（1位がステアリン酸、2,3位がリノール酸）、S L n L n（1位がステアリン酸、2,3位がリノレン酸）、B O O（1位がべヘン酸、2,3位がオレイン酸）、B L i O（1位がべヘン酸、2位がリノール酸、3位がオレイン酸）などが例示でき、これらの中ではB O O（1位がべヘン酸、2,3位がオレイン酸）、O O B（3位がべヘン酸、1,2位がオレイン酸）が好ましい。

##### 【0009】

このL U U型及びU U L型トリアシルグリセロールの油脂は、そのグリセロールの1位、又は3位に結合する脂肪酸が長鎖飽和脂肪酸であるため、リパーゼによる加水分解を受け難い性質を有し、このL U U型及びU U L型トリアシルグリセロールをベース油脂中に0.5～30重量%、好ましくは1～15重量%、最も好ましくは1～10重量%含むことで、リパーゼによる加水分解が緩和・遅延されるというものである。

油脂に対するリパーゼ阻害剤による加水分解の緩和・遅延程度としては、マイルドな阻害効果が好ましく、具体的には摂取油脂の1～3割程度、好ましくは1～2割程度が分解されにくい状態を理想とする。

また、L L U型やL U L型トリアシルグリセロールのように長鎖飽和脂肪酸が分子内に2本導入されたものでは融点が上昇し体温付近では結晶化してしまうため、生体内でリパーゼの基質として認識されにくくなり、阻害効果が期待できない。

##### 【0010】

このL U U型及びU U L型トリアシルグリセロールは一般的には動物・植物・魚由来の長鎖飽和脂肪酸を含む油脂あるいはそのエステル体と、長鎖不飽和脂肪酸を含む油脂とを任意の配合で混合した後、1,3位特異性のあるリパーゼを使用して公知の方法でエステル交換させることで得られる。植物油脂としては例えば、大豆油、菜種油、パーム油、綿実油、ヒマワリ油、コーン油、キャノーラ油などが挙げられ、動物油脂としては牛脂、豚脂、魚油などが挙げられる。また、非選択的エステル交換、例えばナトリウムメチラートなどのアルカリ系触媒を用いてつくことも可能ではあるが、位置異性体であるU L U、

UUU、LLU、LUL、LLLができるため、その後の濃縮操作が煩雑となり、あまり実用的ではない。かくして得られたLUU型及びUUL型油脂はその後、分別などの通常の加工処理を施して80%前後まで濃縮することが出来る。

#### 【0011】

本発明のLUU型及びUUL型トリアシルグリセロールはそのまま使用してもよいし、また任意に他のベース油脂にブレンドして使用してもよい。ブレンドされる比率は期待する効果や使用する系によって異なるが、ベース油脂は食用の動・植物油脂であればなんら制限はない。

#### 【0012】

本発明のLUU型及びUUL型トリアシルグリセロールは、通常油脂を含有する食品に広く使用することができる。例えばクリーム・マーガリン・マヨネーズ・ドレッシング・乳製品といった乳化食品、チョコレートに代表される菓子類、パン類、ハム・ソーセージ等の食肉加工品、かまぼこ・ちくわ等の水産加工食品などに添加して風味・食感を損なうことなく使用できる。

#### 【0013】

本発明のリパーゼ阻害剤、脂質吸収阻害剤、抗肥満剤、高脂血症改善剤及びこれらを含有する医薬の投与方法は、経口投与または非経口投与のどちらでよい。投与に際しては、有効成分を経口投与、直腸内投与、注射などの投与方法に適した固体または液体の医薬用担体と混合して、製剤の形態で投与することができる。

#### 【実施例】

#### 【0014】

以下に本発明の実施例を示し本発明をより詳細に説明するが、本発明の精神は以下の実施例に限定されるものではない。なお、例中、%及び部は、いずれも重量基準を意味する。

#### 【0015】

##### 製造例 1

沃素価84のハイオレイックヒマワリ油50部と純度95%のベヘン酸エチル50部を混合し、1, 3位特異性のリパーゼ(Novozymes, Lipozyme RM-IM)を用いてエステル交換を行うことにより反応油を得、蒸留によりエステル類を除去した後、さらにヘキサン100部を加え-5℃で晶析・分別を行うことにより純度70%のLUU/UUL画分20部、純度78%のLUL画分30部を得た。

#### 【0016】

##### 薬理試験 1

この得られたLUU/UUL画分を大豆油中1部(LUU/UUL純度約0.7%), 5部(LUU/UUL純度約3.5%), 10部(LUU/UUL純度約7.0%)それぞれ置換した系やLUU/UUL画分そのもの(LUU/UUL純度70%)の系で、以下のリパーゼ活性測定を行った。各油脂80mgをサンプリングし、ホスファチジルコリン(Sigma社)80mg、タウロコール酸Na(和光純薬工業)5mg、0.1M NaClを含む0.1MTES緩衝液9ml(PH 7)を各加えた後、超音波発振子で1分間乳化したものを基質した。基質300 $\mu$ lを採取し、ブタ膵臓リパーゼ(Sigma社)を5 $\mu$ l(5U)加え、37℃で1時間反応後、3mlの抽出溶媒(クロロホルム/ヘプタン/メタノール=49部/49部/2部で混合したもの)を加え良く攪拌した後、2500rpmで5分間遠心分離を行い、上層を除去し、下層に銅試薬(トリエタノールアミン2.98g、硝酸銅2.42g、NaOH0.48gを水200mlに溶解し、さらにNaClを66g加えたもの)を1ml加え、10分間攪拌し、2500rpmで10分遠心分離し、上層1.5mlを採取し、発色試薬(バソクプロイン0.2g、ブチルヒドロキシアニソール0.1gをクロロホルム200mlに溶解したもの)1.5mlを加えて遊離した脂肪酸をOD480での吸光度にて定量した。表-1に大豆油そのものの系に対する相対活性を示した。表1に示されるようにLUU/UULで1部を置換した系で約15%、5部を置換した系で約25%活性が阻害されることが判明した。

## 【0017】

## 比較薬理試験 1

製造例 1 で得られた LUL 画分を大豆油中 1 部 (LUL 純度約 0.8%), 5 部 (LUL 純度約 3.9%), 10 部 (LUL 純度約 7.8%) それぞれ置換した系、及び LUL 画分そのものの系 (LUL 純度 78%) で先述の試験例と同様のリパーゼ活性測定を行った。表 1 に示されるように LUL の置換量が増加しても顕著な阻害効果は認められず、また結晶化による一部乳化破壊も確認され、リパーゼの加水分解抑制の効果は無いと判断された。

## 【0018】

## 比較製造例 1

沃素価 1 のトリベヘン 40 部と純度 98% のオレイン酸エチル 60 部、さらにヘキサン 300 部を混合して 1, 3 位特異性のリパーゼ (Novozymes, Lipozyme RM-IM) を用いてエステル交換を行うことにより反応油を得、脱溶剤して蒸留によりエステル類を除去した後、さらにヘキサン 100 部を加え所定の温度で晶析・分別を行うことにより純度 72% の LLU/ULL 画分 15 部、純度 70% の ULU 画分 10 部を得た。

## 【0019】

## 比較薬理試験 2

比較製造例 1 で得られた LLU/ULL 画分を大豆油中 1 部 (LLU/ULL 純度約 0.7%), 5 部 (LLU/ULL 純度約 3.6%), 10 部 (LLU/ULL 純度約 7.2%) それぞれ置換した系、及び LLU/ULL 画分そのものの系 (LLU/ULL 純度 72%) で先述の試験例と同様のリパーゼ活性測定を行った。表 1 に示されるように、LLU/ULL の置換量が増えるとややリパーゼの加水分解抑制効果は認められるが、LUU/ULL 程の効果は認められなかった。

## 【0020】

## 比較薬理試験 3

比較製造例 1 で得られた ULU 画分を大豆油中 1 部 (ULU 純度約 0.7%), 5 部 (ULU 純度約 3.5%), 10 部 (ULU 純度約 7.0%) それぞれ置換した系、及び ULU 画分そのものの系 (ULU 純度 70%) で先述の試験例と同様のリパーゼ活性測定を行った。表 1 に示されるように、ULU の置換量が増えても、顕著なリパーゼの加水分解抑制効果は認められなかった。

## 【0021】



【表 1】

大豆油に対する試験油脂の相対活性

薬理試験	油脂配合 (部)	相対活性 (%)
Control(大豆油)	100/0	100
薬理試験 1 (大豆油/(LUU/UUL))	99/1	85
	95/5	75
	90/10	71
	0/100	54
比較薬理試験 1 (大豆油/LUL)	99/1	95
	95/5	93
	90/10	95
	0/100	92
比較薬理試験 2 (大豆油/(LLU/ULL))	99/1	99
	95/5	95
	90/10	93
	0/100	89
比較薬理試験 3 (大豆油/ULU)	99/1	102
	95/5	99
	90/10	105
	0/100	103

## 【0022】

## マウスでの消化吸収試験

製造例 1 で得られた LUU/UUL 画分を使用して約 2 ヶ月間のマウスでの消化吸収試験を行った。使用したマウスは C57BL/6J で 7 週齢から 1 週間予備飼育後、食餌組成は AIN-93G 組成を一部改良した表 2 の配合飼料にて大豆油群をコントロールにして各群 6 匹で約 2 ヶ月間飼育し、体重変化・飼料効率・体脂肪率の測定を行った。体脂肪率の測定は、実験マウス専用エックス線骨密度測定装置、PIXImus 2 (GE Medical Systems) を使用した。マウスでの 56 日間の消化吸収試験の結果、SUU/UUS 画分を使用した群では体重で約 9%、飼料効率で 12% の低下が認められ、また体脂肪率では約 13% の低下が観られ、脂肪の過剰摂取による肥満にの LUU/UUL 微量添加が効果的であることが示唆された。これらの結果を表 3 に纏めた。

## 【0023】

【表 2】

食餌組成 (wt%)

組成	大豆油群	LUU/UUL 画分 使用群
大豆油	10.0	10.0
LUU/UUL 画分 (試験油脂)	—	0.5
Casein	20.0	20.0
Sucrose	10.0	10.0
$\beta$ -corn starch	36.75	36.25
$\alpha$ -corn starch	13.2	13.2
L-Cystine	0.3	0.3
cellulose powder	5.0	5.0
Min. mix (AIN-93G)	3.5	3.5
Vit. mix (AIN-93G)	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.25	0.25
Total weight	100.00	100.00

【0024】

【表 3】

飼育結果

		大豆油群	LUU/UUL 画分使用群
体重	飼育開始前	22.9 $\pm$ 0.5	22.8 $\pm$ 0.3
	56日飼育後	34.0 $\pm$ 1.2	30.8 $\pm$ 1.4
飼料効率	56日飼育後	0.074 $\pm$ 0.003	0.065 $\pm$ 0.004
体脂肪率	飼育開始前	20.2 $\pm$ 0.9	19.1 $\pm$ 1.0
	56日飼育後	40.5 $\pm$ 1.5	35.1 $\pm$ 1.4

【産業上の利用可能性】

【0025】

本発明により、リパーゼ活性を緩やかに阻害し、かつ油溶性であり、あらゆる食用油脂に添加でき、脂肪の過剰摂取による肥満や肥満が原因で発生する疾病の予防や治療に有効であるリパーゼ阻害剤、およびそれを含む油脂組成物を得ることが可能となったのである。

【書類名】要約書

【要約】

【課題】本発明の目的は、脂肪の過剰摂取による肥満や肥満が原因で発生する疾病の予防や治療に寄与し得て、且つあらゆる油脂に添加し得る油溶性のリパーゼ阻害剤を提供することにある。

【解決手段】本発明は、L U U型及びU U L型トリアシルグリセロール（Lは炭素数16～22の長鎖飽和脂肪酸、Uは炭素数16～22の不飽和脂肪酸より構成される非対称型トリアシルグリセロール）を有効成分とするリパーゼ阻害剤であり、脂質吸収阻害剤であり、抗肥満剤であり、または高脂血症改善剤であって、これらの剤を含有する食品であり、これらの剤を含有する医薬である。

【選択図】なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 4 - 3 4 5 0 9 9
受付番号	5 0 4 0 2 0 3 7 4 1 0
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0 0 9 4
作成日	平成 1 6 年 1 2 月 1 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】 平成 16 年 11 月 30 日

特願 2 0 0 4 - 3 4 5 0 9 9

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 0 0 0 2 3 6 7 6 8 ]

1. 変更年月日

1 9 9 3 年 1 1 月 1 9 日

[変更理由]

住所変更

住 所

大阪府大阪市中央区西心斎橋 2 丁目 1 番 5 号

氏 名

不二製油株式会社